

細菌内毒素によるTNK細胞の活性化とガンマインターフェロン産生誘導

著者	小笠原 康悦
号	22
学位授与番号	141
URL	http://hdl.handle.net/10097/36252

氏 名 (本籍)	小笠原 康 悦 <small>おがさわら こう えつ</small>
学 位 の 種 類	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	歯 博 第 1 4 1 号
学位授与年月日	平 成 9 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯 学 基 礎 系
学 位 論 文 題 目	細菌内毒素による TNK 細胞の活性化とガン マ-インターフェロン産生誘導

(主査)

論文審査委員	教授 高 田 春比古	教授 坂 本 征三郎
		教授 山 田 正

論文内容要旨

歯周病関連細菌の主要なビルレンス因子の1つと考えられているグラム陰性菌の内毒素性リポ多糖 (LPS) は、種々のサイトカイン産生を誘導し、リンパ球を活性化する等多様な生物活性を示し、免疫応答を調節することが知られている。さらに、LPS はナチュラルキラー (NK) 細胞や、T 細胞と NK 細胞の性質を具備した TNK 細胞を賦活して、強い細胞障害活性を発揮させることが報告されている。本研究では、LPS の免疫応答調節作用の新たな側面を明らかにする目的で、LPS を投与されたマウスの肝臓で活性化される NK 細胞と TNK 細胞の動態と、同現象へのサイトカインの関わりを検討した。

まず、C57BL/6 マウスに *Escherichia coli* の LPS を腹腔内投与し、産生誘導されるサイトカインを検討したところ、血清中に高レベルのガンマインターフェロン (IFN- γ) が認められた。次に、LPS による NK 細胞と TNK 細胞の細胞障害活性の増強に関わるサイトカインを明らかにする目的で、種々の抗サイトカインモノクローナル抗体による細胞障害活性抑制実験をおこなった。その結果、NK 細胞と TNK 細胞の細胞障害活性は、主としてインターロイキン12 (IL-12) を介する機序によって活性化され、さらに IFN- γ もその活性増強に強く関与していることが明らかになった。また、TNK 細胞は IL-12 反応性細胞の中でも、IL-12 受容体の発現が顕著に高く、NK 細胞よりも高い IL-12 反応性を示すことが示唆された。次に IL-12 を C57BL/6 マウスに腹腔内投与すると、期待通りに NK 細胞や TNK 細胞の細胞障害活性が増強され、血清中には高レベルの IFN- γ が検出された。しかも IFN- γ を産生している細胞は、IL-12 により活性化された TNK 細胞が主体であることが示された。さらに、活性化した TNK 細胞は、IFN- γ を介するオートクライン的な機構によって、IFN- γ を産生し続ける可能性が示唆された。

本研究ではさらに、歯周病発症に深く関わりとされる黒色色素産生菌の *Porphyromonas gingivalis* ならびに *Prevotella intermedia* の LPS にも同様の IFN- γ 産生誘導作用が認められることが証明された。これらの知見は歯周局所でも、歯周病関連細菌の侵襲によって IL-12 産生が誘導され、サイトカインネットワークの活性化が引き起こされる可能性があることを示唆している。

審 査 結 果 要 旨

グラム陰性菌の外膜構成成分である内毒素性リポ多糖 (LPS) は、いわゆる内毒素としての作用の他にも極めて多彩な活性を発揮する生体応答調節物質 (BRM) として知られている。近年、これらの作用は LPS に応答する多様な細胞が産生する種々のサイトカインに帰結するとの説が広く受け入れられるようになった。歯科領域でも、歯周病と深く関わりとされる *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* 等の黒色色素産生菌 (BPB) の LPS のビルレンス作用の研究が活発に展開され、歯周組織のサイトカインネットワークをこれら LPS が攪乱して組織破壊をもたらすとの視点に立った研究が盛んである。

本論文は、LPS の免疫応答調節作用の新たな側面を明らかにする目的で、まず C57BL/6 マウスに *Escherichia coli* の LPS を腹腔内投与して、肝臓で活性化されたナチュラルキラー (NK) 細胞と最近注目を集める TNK 細胞 (NK 細胞と T 細胞の両方のマーカーを発現する) の動態と、LPS によって産生誘導されるサイトカインとの関わりを検討している。その結果、LPS による肝臓の NK 細胞と TNK 細胞の活性化は主として LPS によって誘導されたインターロイキン12 (IL-12) を介する機序によって惹起されることを証明している。また、TNK 細胞は IL-12 反応性細胞の中でも IL-12 レセプターの発現が顕著に高いことを見出し、NK 細胞よりも高い IL-12 反応性を示す可能性を提示している。さらに、IL-12 を C57BL/6 マウスに腹腔内投与すると、NK 細胞や TNK 細胞の細胞障害活性が増強し、血清中に高レベルのガンマインターフェロン (IFN- γ) が誘導されることを観察している。以上の知見より、LPS によって誘導される IFN- γ 産生細胞は、IL-12 によって活性化された TNK 細胞が主体であり、活性化した TNK 細胞がオートクライン的機構で IFN- γ を産生し続けると推論している。以上の研究に加えて、本論文では歯周病関連菌の *P. gingivalis* ならびに *P. intermedia* の LPS にも *E. coli* LPS には劣るものの明確な IFN- γ 誘導作用を見い出して、本研究と歯周病との関わりについても論考している。

以上のように、小笠原康悦君の研究は、LPS による IFN- γ 産生細胞の主体が、TNK 細胞であることを始めて証明して、LPS 活性の新たな側面を明らかにするとともに、IL-12 を介する TNK 細胞活性化の機序の一端を明らかにしたものと高く評価できる。さらに、現時点では歯周組織での TNK 細胞の存在は確認されていないが、歯周病関連細菌の LPS の作用に新たな知見を加えて、歯周組織破壊の機序解明に資するものと評価できる。従って、本論文は博士 (歯学) の学位授与に十分値するものと判定した。